OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Mechanistic Study on Oxidative Stress Sensor Protein Containing Iron-sulfur Cluster
Author(s)	藤川, 麻由
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/52190
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（　藤川麻由　）	
論文題名	Mechanistic Study on Oxidative Stress Sensor Protein Containing Iron-sulfur Cluster （鉄硫黄クラスターを持つ酸化ストレスセンサー蛋白質の応答機構に関する研究）

論文内容の要旨

本論文では、[2Fe-2S] クラスターをセンサー部位に持ち、酸化ストレスに応答する転写因子SoxRの応答機構について、パルスラジオリシス法による反応機構および蛍光プローブ法あるいは紫外共鳴ラマンスペクトルによる構造変化を検討、議論した。

第一章ではパルスラジオリシス法によるO_2^-とSoxRとの反応を検討した。その結果、O_2^-とSoxRの還元型とが反応し、酸化型SoxRとなることがわかった。また、この反応の二次速度定数は*E. coli* SoxRに存在するSODと同程度の値を示し、細胞中においてもO_2^-が直接SoxRのシグナルとしてはたらくことが示唆された。

第二章ではパルスラジオリシス法によるNOと*E. coli* SoxRとの反応を検討した。その結果、速い過程と遅い過程の変化が見られ、それぞれはSoxRの鉄硫黄クラスターに1分子目あるいは2分子目のNOが配位する過程であることがわかった。1分子目のNOが配位する速度は$1.3 \times 10^8\ M^{-1}s^{-1}$と他の金属タンパク質と比較して大きな値となり、SoxRは効率的にNOと反応することが示された。加えて、パルスラジオリシス法における最終生成物としてジニトロシル鉄錯体ができることをESRスペクトルで確かめられた。

第三章ではDNAに組み込むことができる蛍光プローブを用いた実験でSoxRの鉄硫黄クラスターの酸化還元に伴うプロモーターDNAの構造変化を検討した。その結果、プロモーターDNAの中心部における局所的な大きな構造変化によって転写活性が制御されることが明らかになった。

第四章では紫外共鳴ラマンスペクトル測定によるSoxRの鉄硫黄クラスターの酸化還元に伴うアミノ酸残基の挙動を検討した。その結果、鉄硫黄クラスター近傍に存在するアミノ酸残基が鉄硫黄クラスターの酸化還元に伴い大きく動くことが明らかになった。

第五章では、SoxR-DNA複合体、SoxR単体における酸化還元電位をそれぞれ測定した。その結果、SoxRの酸化還元電位はDNAと複合体を形成することでわずかに低くなることがわかった。

最後に総括として各章で得られた知見を要約した。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名	（　藤川麻由　）

	(職)	氏　名
論文審査担当者		
主 査	教授	古澤　孝弘
副 査	教授	林　高史
副 査	教授	井上　豪
副 査	教授	桑畑　進
副 査	教授	櫻井　英博
副 査	教授	南方　聖司
副 査	教授	今中　信人
副 査	教授	宇山　浩
副 査	教授	町田　憲一
副 査	教授	平尾　俊一
副 査	教授	安藤　陽一

論文審査の結果の要旨

本論文は、鉄イオウクラスターの状態変化によって酸化ストレスのセンサーとしてはたらく転写因子であるSoxR蛋白質の応答機構を解明することを目的としたものであり、活性酸素種とSoxRとの反応機構あるいは立体構造の変化を明らかにしたものである。以下に主な結果を要約する。

(1) パルスラジオリシス法を用いてスーパーオキサイドアニオンと SoxR との反応を検討し、不活性型である還元型 SoxR はスーパーオキサイドと直接反応をして活性をもつ酸化型へと変化することを明らかにしている。

(2) パルスラジオリシス法を用いて一酸化窒素と SoxR との反応を検討し、一酸化窒素が段階的に鉄イオウクラスターに付加することでジニトロシル鉄錯体となる初期過程を観察することに成功している。

(3) 蛍光プローブを埋め込んだ DNA を用いた実験によって、不活性型から活性型への構造は、SoxR に結合した DNA の中心部分において大きく変化していることを明らかにしている。

(4) SoxR の紫外共鳴ラマンスペクトルを測定し、鉄イオウクラスター周辺のアミノ酸残基において活性型、不活性型間で大きく構造変化していることを明らかにしている。

(5) SoxR-DNA 複合体、SoxR 単体における酸化還元電位を測定し、DNA と結合することで SoxR の酸化還元電位はわずかに低くなることを明らかにしている。

以上のように、本論文は生物界に広く存在する外部環境に応答する転写因子の応答機構に関して有益な示唆を与えるものであり、新規薬剤開発の基礎資料となることが期待できる。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。